

Citation 4

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平4-211699

(43) 公開日 平成4年(1992)8月3日

(51) Int.Cl. ³	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 7/64		8318-4H		
A 6 1 K 37/02	A B C	8317-4C		
C 0 7 K 1/02				

審査請求 未請求 請求項の数11(全 12 頁)

(21) 出願番号	特願平3-32626	(71) 出願人	390023526 メルク エンド カムパニー インコーポ レーテッド MERCK & COMPANY INC OPERATED アメリカ合衆国、ニュージャージー、ロー ウエイ、イースト リンカーン アヴェニ ュー 126
(22) 出願日	平成3年(1991)2月27日	(72) 発明者	アーサー エー、パチエツト アメリカ合衆国、07090 ニュージャージー イ、ウエストフィールド、ミニスインク ウエイ 1090
(31) 優先権主張番号	4 8 5 9 2 0	(74) 代理人	弁理士 岡部 正夫 (外6名)
(32) 優先日	1990年2月27日		最終頁に続く
(33) 優先権主張国	米国 (U S)		

(54) 【発明の名称】 8位に変性アミノ酸を有する新規な免疫抑制シクロスポリン類縁体

(57) 【要約】

【構成】 [デヒドロ-Ala]⁸ シクロスポリン及び
これから誘導された8位にイオウを含むアミノ酸を有す
るシクロスポリンからなる新規な免疫抑制シクロスポリ
ン類縁体。

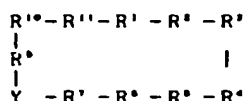
【効果】 この化合物は、免疫調節障害及び疾病の予
防、制御及び治療を含むケアのために有用である。

1

【特許請求の範囲】

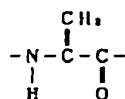
【請求項1】 式

【化1】



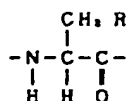
【式中Yは(a) [デヒドロ-Ala]

【化2】



及び(b)式

【化3】

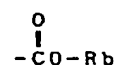


で表わされる【デヒドロ-Ala】のチオ付加物〔Rは 20
CH₃ (O-CH₂-CH₂) n-S (O) m- (mは
0又は1であり、nは1、2、3又は4である) 又はR
a S (O) mであり、Raは

1) H、但しmは0である、

2) C₁ ~、アルキル、3) 置換C₁ ~、アルキル (置換基は(a)

【化4】

ここでRbはC₁ ~、アルキル又は水素である、(b) C₁ ~、アシルアミノ、(c) -NRbRc、ここでRcはC₁ ~、アルキル又は水素である、

(d) ヒドロキシ及び

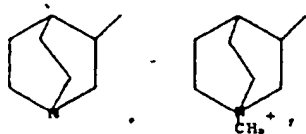
(e) C₁ ~、アシルオキシからなる群から選択される、

4) ベンジル又はフェニル、

5) 置換ベンジル又はフェニル (置換基はC₁ ~、アルキル、ヒドロキシル、C₁ ~、アルキルオキシ及びハロからなる群から選択される) 及び

6)

【化5】



からなる群から選択される) からなる群から選択される。

R¹ はMe Bmt、3-デスオキシMe Bmt又はジヒ

2

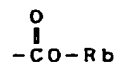
ドロMe Bmtである。

R² はAbu、Ala、Nva、Ser、Thr又はValである。R³ はSar又はN-メチル-D-アラニルである。R⁴ はMeLeu又はMeValである。R⁵ はVal又はNvaである。R⁶ はMeLeu又はMeValである。R⁷ はAla、Abu又はL-フェニル-アラニルである。10 R⁹ はMeLeu又はMeValである。R¹⁰ はMeLeu又はMeValである。R¹¹ はMeVal、D-MeVal又はMeNvaである。) で表わされる化合物。【請求項2】 (a) [3-デスオキシMe Bmt]¹[Y]¹ -CsA、(b) [Ala]² [Y]¹ -CsA、(c) [Thr]² [Y]¹ -CsA及びジヒドロ [Thr]² [Y]¹ -CsA、(d) [Val]² [Y]¹ -CsA及びジヒドロ [Val]² [Y]¹ -CsA、(e) [Nva]² [Y]¹ -CsA及びジヒドロ及びイソ [Nva]² [Y]¹ -CsA、(f) [D-MeVal]¹¹ [Y]¹ -CsA及び(g) [Val]¹¹ [Y]¹ -CsA〔RがCH₃ (OCH₂ CH₂) n-S (O) m (mは0又は1であり、nは1、2、3又は4である) 又はRa S (O) m (mは0又は1であり、Raが

1) mが1でなければH、

2) C₁ ~、アルキル、30 3) 置換C₁ ~、アルキル (置換基は(a)

【化6】

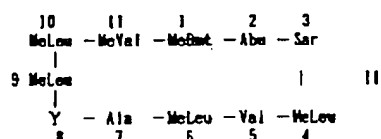
ここでRbはC₁ ~、アルキル又は水素である、(b) C₁ ~、アシルアミノ、(c) -NRbRc、ここでRcはC₁ ~、アルキル又は水素である、

(d) ヒドロキシ及び

(e) C₁ ~、アシルオキシからなる群から選択される) からなる群から選択される) からなる群から選択される請求項1記載の化合物。

【請求項3】 式II

【化7】



で表わされる請求項1記載の化合物。

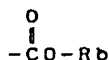
【請求項4】 RがCH₃ (OCH₂ CH₂) n-S

3

(O) m (mは0又は1であり、nは1、2、3又は4である)又はR a S (O) m {mは0又は1であり、R aは

- 1) mが1でなければH、
- 2) C₁ ~、アルキル、例えばメチル、エチル、イソプロピル又はtert-ブチル、
- 3) 置換C₁ ~、アルキル(置換基は(a))

【化8】



ここでR bはC₁ ~、アルキル又は水素である、

- (b) -NHR b、
- (c) C₁ ~、アシルアミノ、
- (d) -NR b R c、ここでR cはC₁ ~、アルキル又は水素である、
- (e) ヒドロキシ及び
- (f) C₁ ~、アシルオキシからなる群から選択される)からなる群から選択される}である請求項3記載の化合物、

【請求項5】 (a) D- [メチルチオ-A l a]^{*} - C s A、

(b) D- [3-カルボメトキシメチルチオ-A l a]^{*} - C s A、

(c) D- [3 (2-ヒドロキエチルチオ) A l a]^{*} - C s A、

(d) D- [デヒドロ-A l a]^{*} - C s A、

(e) D- [3-ベンジルチオ-A l a]^{*} - C s A、

(f) D- [3-フェニルチオ-A l a]^{*} - C s A、

(g) D- [3-メチルチオ-A l a]^{*} C s Aスルホキシド、

(h) D- [3 (2-ヒドロキエチルチオ) A l a]^{*} C s Aスルホキシド及びD- [(2-メトキシエトキシ)エトキシエチルチオ-A l a]^{*} - C s Aからなる群から選択される請求項4記載の化合物、

【請求項6】 請求項1、3又は5記載の化合物の治療的に有効な量を投与することを特徴とする治療を必要としている患者の免疫抑制を誘導するか又は炎症を治療する医薬組成物、

【請求項7】 請求項1、3又は5記載の化合物の治療的に有効な量を投与することを特徴とする治療を必要としている患者の免疫抑制を誘導するか又は炎症を治療する方法、

【請求項8】 [X-D-A l a]^{*} - C s A (Xはフッ素、塩素、メシルオキシ又はトシルオキシである)を非プロトン性溶媒中で非プロトン性塩基と接触させて式[Δ-A l a]^{*} - C s Aの化合物を生成することを特徴とする式[Δ-A l a]^{*} - C s Aの化合物の製造方法、

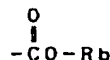
【請求項9】 [Δ-A l a]^{*} - C s Aを式RSH又はR、SHの化合物及び塩基とアルコール又はエーテル

4

溶媒中で接触させて(式中RはCH₂ (O-CH₂-C H₂) n-S- (nは1、2、3又は4である)又はR a S-であり、R aは

- 1) H但しmは0である、
- 2) C₁ ~、アルキル例えばメチル、エチル、イソプロピル又はtert-ブチルである、
- 3) 置換C₁ ~、アルキル(置換基は(a))

【化9】



ここでR bはC₁ ~、アルキル又は水素である、

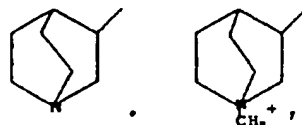
- (b) C₁ ~、アシルアミノ、
- (c) -NR b R c、ここでR cはC₁ ~、アルキル又は水素である、
- (d) ヒドロキシ及び
- (e) C₁ ~、アシルオキシからなる群から選択される)、

4) ベンジル又はフェニル、

5) 置換ベンジル又はフェニル(置換基はC₁ ~、アルキル、ヒドロキシル、C₁ ~、アルキルオキシ及びハロからなる群から選択される)及び

6)

【化10】



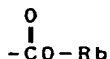
からなる群から選択される)、式[RS-A l a]^{*} - C s A又は[R a S-A l a]^{*} - C s Aの化合物を生成することを特徴とする式[RS-A l a]^{*} - C s Aの化合物の製造方法、

【請求項10】 式[D-RS-A l a]^{*} - C s Aの化合物を過ヨウ素酸塩とC₁ ~、アルカノール中で接触させることを特徴とする式[D-RSO-A l a]^{*} - C s Aの化合物の製造方法、

【請求項11】 [D-C y s]^{*} - C s AをRX又はR a XとC₁ ~、アルカノール中でカリウムt-ブトキシド又はナトリウムメトキシドと共に接触させる(式中RはCH₂ (OCH₂-CH₂) n (nは1、2又は3である)でありR aは

- 1) C₁ ~、アルキル、
- 2) 置換C₁ ~、アルキル(置換基は(a))

【化11】



ここでR bはC₁ ~、アルキル又は水素である、

- (b) C₁ ~、アシルアミノ、
- (c) -NR b R c、ここでR cはC₁ ~、アルキル又は水素である、

(d) ヒドロキシ及び

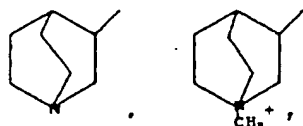
(e) C₁ ~。アシルオキシからなる群から選択される) ;

3) ベンジル、

4) 置換ベンジル (置換基はC₁ ~、アルキル、ヒドロキシル、C₁ ~、アルキルオキシ及びハロからなる群から選択される) 及び

5)

【化12】



から選択され、Xはハロ、メシルオキシ又はトシルオキシである) ことを特徴とする式 [D-RS-A1a]⁺ -CsA又は [D-RaS-A1a]⁺ CsAの化合物の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】シクロスポリン類は有効な免疫抑制、抗寄生虫、殺菌及び慢性抗炎症特性を示す環1位に新規な9個の炭素アミノ酸 (MeBmt) を含む中性の疎水性環状ウンデカペプチド系である。構造的に関連のあるこの系の天然の化合物は種々の不完全菌類によって産生される。シクロスポリンA及びCが主成分である。以下で更に述べられるシクロスポリンAはシクロスポリン系の特に重要な化合物である。オリゴペプチドである24種の代謝物質も確認されている; ローエン (Lawen) 等, J. Antibiotics, 第42巻, 第1283頁 (1989年); トラバー (Traber) 等, Helv. Chim. Acta, 第70巻, 第13頁 (1987年); フォンワルトブルグ (Von Wartburg) 及びトラバー, Prog. Med. Chem. 第25巻, 第1頁 (1988年)。シクロスポリンA及びCの単離並びにAの構造はA. ルュジャー (Ruegger) 等, Helv. Chim. Acta, 第59巻, 第1075頁 (1976年); M. ドレイフス (Dreyfuss) 等, J. Appl. Microbiol. 第3巻, 第125頁 (1976年) に報告されている。Aのヨウ素誘導体の結晶構造及び分子構造はT. J. ペッチャー (Petcher) 等, Helv. Chim. Acta, 第59巻, 第1480頁 (1976年) に報告されている。Cの構造はトラバー等, 同書, 第60巻, 第1247頁 (1977年) に報告されている。A及びCの生産はE. ハリ (Harri) 等の米国特許第4, 117, 118号 (1978年サントスに対して) に報告されている。B, D, Eの単離、確認及び抗菌活性並びにA~Dの構造はR. トラバー等, Helv. Chim. Acta, 第60巻, 第1568頁 (1977年) に報告されている。E, F, G, H, Iの単離及び構造、同著者, 同書, 第65巻, 第1655頁 (1982年)。[2-デウテロ-3-フルオロ-D-Ala]⁺ -CsAの製造はパチェット (Patchett) 等による1988年12月

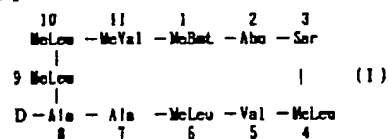
29日に公告された英国特許第2, 206, 199A号に開示されている。

【0002】更に特性についてもAの生物学的活性の研究; ボレル (Borel) 等, Agents Actions, 第6巻, 第468頁 (1976年) に報告されている。薬理学 (Pharmacology); 同著者, イムノロジー, 第32巻, 第1017頁 (1977年); R. Y. カルネ (Calne), Clin. Exp. Immunol. 第35巻, 第1頁 (1979年)。ヒト研究 (Human studies); R. Y. カルネ等, ランセット (Lancet), 第2巻, 第1323頁 (1978年); R. L. ポールス (Powles) 等, 同書, 第1327頁; R. L. ポールス等, 同書, 第1巻, 第327頁 (1980年)。試験管内活性 (豚T細胞); D. J. ホワイト (White) 等, トランスプランテーション (Transplantation), 第27巻, 第55頁 (1979年)。ヒトリンパ系及び骨髓細胞に関する作用; M. Y. ゴードン (Gordon), J. W. シンガー (Singer), ネイチュア (Nature), 第279巻, 第433頁 (1979年)。移植片対宿主疾患に於けるAの臨床研究; P. J. ツツシュカ (Tutschka) 等, ブラッド (Blood), 第61巻, 第318頁 (1983年)。シクロスポリンAが有用であることが見い出されるこれまでの膨大な適用リストによって例示されるようにシクロスポリン系化合物は臓器及び骨髓移植の拒否反応の予防並びに乾癬及び多くの自己免疫疾患例えば1型糖尿病、多発性硬化症、自己免疫葡萄膜炎及びリウマチ様関節炎の治療に効用がある。別の適用は後に述べる。当業者に一般に認められる通り、リンパ球からのインターロイキン-2 (IL-2) 及び他のリンホカインの分泌抑制はシクロスポリン類縁体の内因性免疫抑制作用の有用な指標である。シクロスポリンの用途及び作用機構の最近の文献としてはウェンガー (Wenger) 等シクロスポリン: ケミストリー, ストラクチャーアクティビティリレーションシップス アンド モードオブアクション, プログレス イン クリニカルバイオケミストリー アンド メディシン, 第2巻, 第176頁 (1986年) 参照。

【0003】シクロスポリンAは数個のN-メチルアミノ酸を含み、8位にD-アラニンを含む環状ペプチドである。

シクロスポリンAの構造

【化13】



Abu=L-α-アミノ酪酸

Ala=L-アラニン

MeBmt=N-メチル-(4R)-4-[(E)-2-ブテニル]-4-メチル-L-トレオニン

Leu=L-ロイシン

(5)

特開平4-211699

7

MeLeu=N-メチル-L-ロイシン

MeVal=N-メチル-L-バリン

Nva=L-ノルバリン

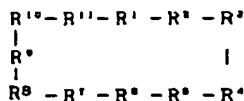
Sar=サルコシン

Thr=L-トレオニン

Val=L-バリン

a 特にことわらない限り開示されたシクロスポリンの各アミノ酸はL-配置を有する。シクロスポリンA及びその類縁体を記載するのに有用な一般構造は

【化14】



である。式中肩文字の数字はアミノ酸の位置を示す。アミノ酸の8位に我々の特定の関心があるため以後“R”を“Y”に置き換えてそのアミノ酸を強調する。この分野に於て行なわれている通り、個々のシクロスポリン類縁体はこの類縁体がシクロスポリンAと異なることを明らかにする省略概念を用いて命名することができる。従って2位のトレオニンによりシクロスポリンAと異なるシクロスポリンCは[Thr]²-シクロスポリン又は[Thr]²-CsAと確認することができる。同様にシクロスポリンBは[Ala]²-CsAであり、シクロスポリンDは[Val]²-CsAであり、シクロスポリンEは[Val]¹¹-CsAであり、シクロスポリンFは[3-デスオキシMeBmt]¹-CsAであり、シクロスポリンGは[Nva]²-CsAであり、シクロスポリンHは[D-MeVal]¹¹-CsAである。D-セリンとD-トレオニンは有効化合物を生成する生合成によってシクロスポリンAの8位に導入される。R.トラバー等、J.アンチバイオチクス(Antibiotics)、第42巻、第591頁(1989年)参照。D-クロロアラニンもまた生合成によってシクロスポリンAの8位に導入される。A.ロウエン等、J.アンチバイオチクス、第42巻、第1283頁(1989年)参照。本発明は、免疫調節障害及び疾病の予防、制御及び治療を含むケアのためのシクロスポリンAの新規な類縁体及び関連シクロスポリンに関する。本発明は[デヒドロ-Ala]¹シクロスポリン及びこれらの製造とシクロスポリンAの代替物として有用な新規なシクロスポリン類縁体への変換に関する。更に詳細には本発明は[デヒドロ-Ala]¹シクロスポリン及びこれから誘導された8位にイオウを含むアミノ酸を有するシクロスポリン類縁体に関する。

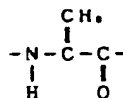
【0004】本発明は式

【化15】

10

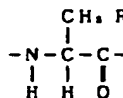
〔式中8位のアミノ酸部分はYでありYは[デヒドロ-Ala]即ち

【化16】



又は[デヒドロ-Ala]のミハエルチオ(Michael thio)付加物即ち

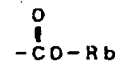
【化17】



{RはCH₃、(O-CH₂-CH₂)_n-S(O)_m- (mは0又は1であり、nは1、2、3又は4である) 又はRaS(O)_m-であり、ここでRaは

- 1) H、但しmは0である、
- 2) C₁ ~、アルキル、例えばメチル、エチル、イソプロピル又はtert-ブチル、
- 3) 置換C₁ ~、アルキル(置換基は(a))

【化18】



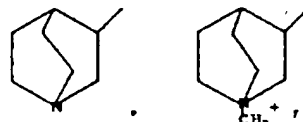
ここでRbはC₁ ~、アルキル又は水素である、

(b) -NR_bR_c、ここでR_cはC₁ ~、アルキル又は水素である、

- (c) C₁ ~、アシルアミノ
- (d) ヒドロキシ及び
- (e) C₁ ~、アシルオキシからなる群から選択される)、
- 4) ベンジル又はフェニル、
- 5) 置換ベンジル又はフェニル(置換基はC₁ ~、アルキル、ヒドロキシル、C₁ ~、アルキルオキシ及びハロからなる群から選択される)、

6)

【化19】



からなる群から選択される)である。

R¹はMeBmt、3-デスオキシMeBmt又はジヒドロMeBmtであるが、これらに限定されない。

50 R²はAbu、Ala、Nva、Ser、Thr又はV

9

a lであるがこれらに限定されない。

R² はSar又はN-メチル-D-アラニルであるが、これらに限定されない。

R⁴ はMeLeu又はMeValであるが、これらに限定されない。

R⁵ はVal又はNvaであるが、これらに限定されない。

R⁶ はMeLeu又はMeValであるが、これらに限定されない。

R⁷ はAla, Abu又はL-フェニル-アラニルであるが、これらに限定されない。

R⁸ はMeLeu又はMeValであるが、これらに限定されない。

R¹⁰ はMeLeu又はMeValであるが、これらに限定されない。

R¹¹ はMeVal, D-MeVal又はMeNvaであるが、これらに限定されない。) で表わされるシクロスポリン類縁体に関する。

【0005】本発明の範囲内の1実施態様は、

(a) [3-デスオキシMeBmt]¹ [Y]⁸ -Cs 20 A,

(b) [Ala]² [Y]⁸ -Cs A,

(c) [Thr]² [Y]⁸ -Cs A及びジヒドロ [Thr]² [Y]⁸ -Cs A,

(d) [Val]² [Y]⁸ -Cs A及びジヒドロ [Val]² [Y]⁸ -Cs A,

(e) [Nva]² [Y]⁸ -Cs A及びジヒドロ及びイソ [Nva]² [Y]⁸ -Cs A,

(f) [D-MeVal]¹¹ [Y]⁸ -Cs A及び

(g) [Val]¹¹ [Y]⁸ -Cs Aからなる群から選 30 択されるシクロスポリン類縁体である。

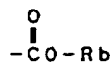
この実施態様の範囲内の種類の化合物はRがCH₂ (OCH₂CH₂) n-S (O) m (mは0又は1であり、nは1、2、3又は4である) 又はRa S (O) m (mは0又は1であり、Raは

1) mが1でなければH,

2) C₁ ~, アルキル, 例えばメチル, エチル, イソプロピル又はtert-ブチル,

3) 置換C₁ ~, アルキル (置換基は(a)

【化20】



ここでRbはC₁ ~, アルキル又は水素である。

(b) C₁ ~, アシルアミノ,

(c) -NRbRc, ここでRcはC₁ ~, アルキル又は水素である。

(d) ヒドロキシ及び

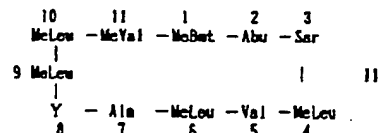
(e) C₁ ~, アシルオキシからなる群から選択される) からなる群から選択される) である化合物である。

【0006】本発明の範囲内の第2の実施態様は式IIで 50 式中Xはフルオロ、クロロ、メタンスルホニルオキシ、

10

表わされる化合物である。

【化21】



この実施態様の範囲内の種類の化合物はRがCH₂ (OCH₂CH₂) n-S (O) m (mは0又は1であり、nは1、2、3又は4である) 又はRa S (O) m (mは0又は1であり、Raは

1) H, 但しmは0である,

2) C₁ ~, アルキル, 例えばメチル, エチル, イソプロピル又はtert-ブチル,

3) 置換C₁ ~, アルキル (置換基は(a)

【化22】



ここでRbはC₁ ~, アルキル又は水素である。

(b) C₁ ~, アシルアミノ,

(c) -NRbRc, ここでRcはC₁ ~, アルキル又は水素である。

(d) ヒドロキシ及び

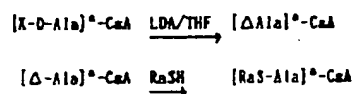
(e) C₁ ~, アシルオキシからなる群から選択される) からなる群から選択される) である化合物である。

この種類の具体例は、D-[3-メチルチオ-Ala]⁸ -Cs A, D-[3-カルボメトキシメチルチオ-Ala]⁸ -Cs A, D-[3-(2-ヒドロキシエチルチオ)Ala]⁸ -Cs A, D-[3-ベンジルチオ-Ala]⁸ -Cs A, D-[3-フェニルチオ-Ala]⁸ -Cs A, D-[3-メチルチオ-Ala]⁸ -Cs Aスルホキシド, D-[3-(2-ヒドロキシエチルチオ)Ala]⁸ -Cs Aスルホキシド及びD-[(2-メトキシエトキシ) エトキシエチルチオ-Ala]⁸ -Cs Aである。

【0007】本発明の化合物は以下で一般的に後に実施例部分で更に明瞭に記載される方法を用いて製造することが便利である。ここで図式1によれば、1実施態様に於ける本発明のシクロスポリン類縁体が [X-D-Ala]⁸ -Cs Aを [Δ-Ala]⁸ -Cs Aに変換することにより便利に製造される。

【化23】

図式1



トルエンスルホニルオキシであり、Raは上で示したRaの最も広い範囲の定義である。図式1によれば[2-デューテロ-3-フルオロ-D-Ala]⁺-CsA ([F-D-Ala]⁺-CsAとして略される)を非プロトン性溶媒中で非プロトン性塩基と反応させて[Δ-Ala]⁺-CsAを得る。[F-D-Ala]⁺-CsAは17個の活性水素(12-αCH、4-NH及び1-OH)を有する。従ってポリアニオンを生成させるために極めて過剰の非プロトン性塩基を必要とする。

[F-D-Ala]⁺-CsAに対する非プロトン性塩基のモル比は17~35の範囲であり、20~25が好適である。適当な非プロトン性塩基としては、これらに限定されないが、モノ又はジC₁~。アルキルアミド誘導体例えばリチウムジエチルアミド、リチウムジイソプロピルアミド、ナトリウムビス(トリメチルシリル)アミド、リチウムビス(トリメチルシリル)アミドがあり、リチウムジイソプロピルアミドが好適である。適当な非プロトン性溶媒としては、ジC₁~。アルコキシC₁~。アルカン誘導体例えば1, 2-ジメトキシエタン; エーテル例えばジエチルエーテルジ-n-ブチル及びジイソペンチルエーテル; 環状エーテル例えばテトラヒドロピラン、ジヒドロピラン、テトラヒドロフルフリルメチルエーテル、フラン、テトラヒドロフラン及び2-エトキシテトラヒドロフラン; 及びモノ又はジC₁~。アルキルカルボニルアミン例えばジメチルホルムアミドがあるがこれらに限定されない。テトラヒドロフランが好適である。反応は-100~-10℃の温度範囲で行なうのが便利であり、-70~-30℃が好適である。反応は1~24時間完結するまで進行させ、4~5時間の反応時間が好適である。[Δ-Ala]⁺-CsA生成物は当業界で既知の標準クロマトグラフィー、シリカゲルプレートによるHPLC又はTLCによって分離することができる。

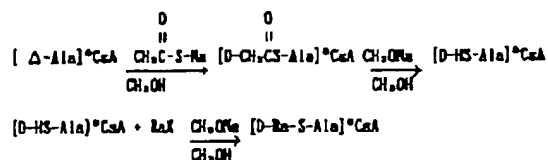
【0008】次いで[Δ-Ala]⁺-CsAを第2溶媒中イオウ求核基と第2塩基の存在下で反応させてチオ化合物[R, S-Ala]-CsAに変換する。第2塩基としてはこれらに限定されないがアルカリ金属C₁~。アルコキシド及び水素化物例えばナトリウム、リチウム又はカリウムメトキシド又はヒドリドがあるが、ナトリウムメトキシドが好適である。第2溶媒としては、これらに限定されないが、選択された第2塩基に対応するC₁~。アルカノール例えばメタノール及びエーテル(上で定義した通りのもの)例えば1, 2-ジメトキシエタン又はテトラヒドロフランがあり、テトラヒドロフランが好適である。対応する第2溶媒及び塩基の1具体例はメタノールとナトリウムメトキシドである。イオウ求核基としてはRSH(RはCH₃(O-CH₂-CH₂)_n-S(O)_mである)及びRaSH(Raは上で示した最も広い範囲の定義を示す)があるが、これらに限定されない。反応は0~50℃の温度範囲で行なうの

が便利であり、15~30℃が好適である。反応は1~36時間完結するまで進行させ、15~18時間が好適である。図式1に於て[Δ-Ala]⁺-CsAのΔ-Ala部分は種々の求核基に対するミハエル受容体として働く。上記の別法として[Δ-Ala]⁺-CsAは[D-Ser]⁺-CsAから製造することができる。この方法に於て、[D-Ser]⁺-CsAは4-ジメチルアミノピリジンの存在下塩基メチレン中わずかに過剰量の塩化メタンスルホニル又は塩化トルエンスルホニルで処理して、クロマトグラフィー後、[メタン又はトルエン置換スルホニルオキシ-D-Ser]⁺-CsAを生成させる。これらの化合物は過剰のLDAでTHF中低温で処理して[Δ-Ala]⁺-CsAを生成させることができる。同様に[D-クロロ-Ala]⁺-CsAを過剰のLDAでTHF中低温で処理して[Δ-Ala]⁺-CsAを得ることができる。[Δ-Ala]⁺-CsAをチオール酢酸のナトリウム塩と反応させて[D-HS-Ala]⁺-CsAを生成し次に加水分解することを示す図式2で表わされる通り[D-Cys]⁺-CsA([D-HS-Ala]⁺-CsAと同一である)からRX及びRaX(Raはフェニル又は置換フェニルではなく、Xは塩素、臭素又はスルホニルオキシアルール又はアルキル基例えばメシルオキシ又はトシルオキシである)と反応させることによる別法で、化合物[D-RS-Ala]⁺-CsA(ここでRはCH₃(O-CH₂-CH₂)_n-S(O)_m)及び[D-RaS-Ala]⁺-CsAも製造することができる。

【0009】当業者に理解されるように本発明の範囲内の残りの化合物は類似の方法で製造することができる。開示された化合物のSRa基は対応するスルホキシドに酸化することができる。スルホキシドへ都合の良い経路は以下に記載される過ヨウ素酸塩酸化による。

【化24】

図式2

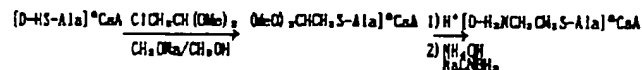


図式2に示される通り[Δ-Ala]⁺-CsAを5~10当量のCH₃COS-Na(当量のCH₃COSHとCH₃ONaからこの場で生成する)でCH₃OH中20~25℃で15~18時間処理すると一部脱アセチル化された[D-CH₃COS-Ala]⁺-CsAを生成する。[D-HS-Ala]⁺-CsAへの脱アセチル化はCH₃ONa(1~5当量)とメタノールのようなC₁~。アルカノール中20~25℃で3~18時間反応させて完結する。[D-HS-Ala]⁺-CsAを

13

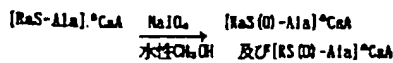
R¹ X (5~10当量)とCH₃ONa (1~2当量)の存在下でCH₃OHのようなC₁~₈アルカノール中20~25℃で15~18時間反応させると[D-Ra S-Ala]⁺CsAを生成する。この方法に於てRaはフェニル又は置換フェニルではない。

【0010】具体的にこの経路によって得られる化合物は[D-3-チア-Lys]⁺-CsA ([D-H₂N*
 図式3



【化26】

図式4



図式4に示される通り、[RaS-Ala]⁺シクロスポリンは好ましい溶媒として3:1の比のメタノール水による水性アルコール中で過ヨウ素酸ナトリウムで処理して対応するスルホキシドに変換する。時間は3~36時間の範囲であり、15~18時間が好適である。好適な温度範囲は20~25℃である。

【0011】これらの免疫抑制活性を考えると例えば式IIの最終生成物シクロスポリンは免疫応答の減少を必要とする疾病及び症状の予防及び治療に有用である。従ってこれらは自己免疫疾患の治療及び移植片例えば皮膚、肺、心臓、心臓-肺、骨髄、腎臓、脾臓、角膜移植片の拒否反応を予防するといったリンパ球及び免疫細胞の増殖を抑制するために使用することができる。式IIのシクロスポリンが有用である個々の自己免疫疾患としては、シクロスポリンによる治療が提示又は使用されているもの全て例えば再生不良性貧血、真正赤血球性貧血、特発性血小板減少症、全身性紅斑性狼瘡、多発性軟骨炎、強皮症、ウェグネル肉芽腫症、慢性活動性肝炎、重症性筋無力症、乾癬、ステーブンソン症候群、特発性高アルドステロン症、クローン病、グレーブズ眼病、顎肉腫症、原発性胆汁性肝硬変、原発性若年型糖尿病、後葡萄膜炎、間質性肺性線維症及び乾癬性関節炎、並びにインスリン依存性糖尿病、ネフローゼ症候群及びエイズを含む。これらの用途全てに対して投薬量は勿論使用される化合物、所望される投与方法及び治療方法によって異なる。しかしながら一般に動物の体重1kg当たり約1~200mgの日用量で投与され、便利には1日2~4回に分けた投与量で又は持続した放出形態で投与されるとき良好な結果が得られる。より大きな哺乳類に対しては全日用量は約50~500.0mgの範囲にあり、経口投与に適した投薬形は固形又は液状医薬担体又は希釈剤と混和さ

14

*CH₂:CH₂:S-Ala]⁺-CsA)である。この化合物はシクロスポリン受容体を分離し、シクロスポリン抗体を調製するアフィニティークロマトグラフィーカラムを調製するのに有用である。[D-3-チア-Lys]⁺CsAは図式3に示す通り製造することができる。

【化25】

れる化合物約15~500mg (例えば25~300mg)を包含する。本発明はまた式IIの化合物を医薬担体又は希釈剤と共に包含している医薬組成物を提供する。このような組成物は例えば溶液、錠剤又はカプセルの形及び特に乾癬の治療用に軟膏としてあることができる。式IIのシクロスポリンはあらゆる通常の経路、特にシクロスポリンの投与に関して現在実施されている手段に従って特に静脈注入により、例えば臓器移植片の場合、移植前及び直後並びに吸収が阻まれる胃腸障害のある間又は経口的に例えば経口溶液の形で投与することができる。

【0012】生物学的活性は、シクロフィリンに対する結合親和性、シクロスポリンに対する細胞質ゾル受容体(R. ハンドシュマチャー(Handschumacher)等、サイエンス(Science)、第226巻(1984年)第544頁)、インターロイキン-2産生の抑制T細胞増殖の抑制によって測定することができる。表2は本発明の代表化合物の薬理学的活性を例示する。T細胞増殖はイオノマイシンとホルボールミリステートアセテート(PMA)で刺激したT細胞培養をマウスについて測定した。C57B1/6マウスからの脾細胞浮遊液を調製し、ナイロンウールカラムで分離した。回収したT細胞をイオノマイシン(250ng/ml)とPMA(10ng/ml)を加えた完全培地に10⁶細胞/mlで浮遊させた。細胞浮遊液を直ちに96穴-平底マイクロ培養プレートに100μl/ウェル(well)で分配した。対照培地又は種々の濃度の試験化合物を10μl/ウェルで3回実験のウェルに加えた。これらのプレートを5%CO₂-95%空気の加湿雰囲気中37℃で4時間温置した。4時間の培養でこれらのプレートはPBS(10mg/ml)中(3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミド(MMT)の溶液20μl/ウェルを得た。代謝的に活性な細胞によって産生したMTTホルマザンの紫色結晶を溶解するために10%SDS-0.01N塩酸溶液100μlを各ウェルに加えた。培養プレートを5%CO₂恒温器に37℃で温置した。これらのプレートをマルチウェル走査分光光度計の570~600nmで読み取った。実験ウェルの吸光度

(比OD)を無刺激細胞又は無細胞によるウェルに対して補正した。増殖の阻止%を式阻止% = 100 - 実験用比OD / 対照培地比OD × 100に従って計算した。

【表1】

表 2

シクロスポリン類縁体の免疫抑制活性

MeLeu - MeVal - MeBzT - Abu - Sar		
MeLeu		
Y - Ala - MeLeu - Val - MeLeu		
Y	シクロスポリン類縁体の結合 ^a	T細胞の増殖阻止 ^b
[CH ₃ -S-Ala]	76	53
		117
		24
		33
		41
		30
[HOCH ₂ CH ₂ -S-Ala]		50
		80
		85
		54
[元PO-Ala]	約 30	

a この測定はR. ハンドシュマチャー等、サイエンス第226巻 (1984年) 第544頁に詳細に記載されている。

b データはCsA活性%として表わす (CsA [シクロスポリンA] = 100)。

【0013】次の実施例は本発明の式IIの化合物の製造を具体的に説明するものであるが、このままを明細書に添えられている特許請求の範囲で示した本発明を限定するものとしてみなすべきではない。本発明のシクロスポリン類縁体の製造は上記の図式1~4に示される。[2-デユウテロ-3-フルオロ-D-Ala]¹ - CsAの製造は1988年6月20日にパチェット (Patchett) 等によって出願された英国特許第2, 206, 119A号に開示される。[2-デユウテロ-3-フルオロ-D-Ala]¹ - CsAの製造は実施例1でも開示される。3-フルオロアラニンのようなフッ素化アミノ酸の製造は当業者に周知のことである。例えばコロニッシュ (Kollonitsch), J. イスラエル, J. of Chemistry, 第17巻, 第53~59頁 (1978年) 及びデュレット (Durette) 等, トランスプランテーションプロシーディングス (Transplantation Proceedings), 第20巻, 第2号, 補遺2, 第51~77頁 (1988年4月) 参照。上述した通り本発明の範囲内のシクロスポリン類縁体の各々は[2-デユウテロ-3-フルオロ-D-Ala]¹ 又は[3-クロロ-D-Ala]¹ 又は[D-Ser]¹ を有する好適なシクロスポリン類縁体出発物質から製造される。これらの置換シクロスポリン類縁体はまたウェンガーにより1983年8月2日に登録された

米国特許第4, 396, 542号で教示され、1989年1月17日に登録された米国特許第4, 798, 823号で拡大された全合成によって製造することができ、これらの特許を引用する。これらの全合成に於てD-Ala成分が2-デユウテロ-3-フルオロ-D-Ala¹、3-クロロ-D-Ala¹又はD-Serに置換されて対応する8-置換シクロスポリンを生成する。工程の残りの出発物質は市販で及び/又は既知の製造方法で得られる。

10 【0014】実施例1

[2-デユウテロ-3-フルオロ-D-アラニン]¹ - シクロスポリンAの製造

培養: トリポクラジウムインフラツム (Tolypocladium inflatum) MF5080, NRRL-8044.

培地: 斜面培地A g/リットル

麦芽エキス 20.0

酵母エキス 4.0

寒天 20.0

種子培地B

20 麦芽エキス 70.0

グルコース 50.0

培地C

グルコース 40.0

カゼインペプトン 10.0

MgSO₄ · 7H₂O 0.5

KH₂PO₄ 2.0

NaNO₃ 3.0

KCl 0.5

FeSO₄ · 7H₂O 0.01

30 親液管を無菌的に開け、回転シェーカー (220 rpm)

により27℃で4日間種子培地B (250 mlの3-バツフル付三角フラスコ中20 ml) で培養した。次いでこの

種子を用いて後の研究のために斜面 (培地A) に接種した。この斜面を27℃で14日間温置しその後使用する

まで4℃で貯蔵した。全斜面からの胞子を培地C 5 mlで

洗浄し、これを用いて前培養フラスコ (250 mlの三角

フラスコ中培地C 50 ml) に接種した。この前培養液を

27℃で5日間温置した。この前培養液5 mlを用いて産

生培地 (250 mlの三角フラスコ中培地C 50 ml及び2

40 [2-デユウテロ-3-フルオロ-D-アラニン5 mg/ml) に接種した。滅菌したフィルターに2-デユウテロ-3-

フルオロ-D-アラニンを滅菌後及び温置前に加えた

(5 mg/ml, 最終濃度)。産生培地の全量2.2リットルを含む44個のフラスコを攪拌しながら (220 rpm)

27℃で14~21日間温置した。温置後、発酵ブイオンを以下のC項で記載される方法によって抽出した。

【0015】実施例2

[3-フルオロ-D-アラニン]¹ - CsAの製造

前培養液を用いて2-デユウテロ-3-フルオロ-D-

アラニンの代わりに3-フルオロ-D-アラニン5mg/mlを含む全量400mlの産生培地に接種したほかは実質的に実施例1と同様の方法に従って発酵ブイオンを得、これを以下のC項で記載される方法によって抽出した。

C. 抽出法

- ブイオンから遠心分離により細胞を除去した。
- 清澄化したブイオンを塩化メチレン25mlずつで3回抽出した。
- 細胞をアセトン25mlずつで3回抽出した。
- 塩化メチレン及びアセトン抽出液をブールし、真空下で乾固した。
- 残留物をメタノールで可溶化し、無水Na₂SO₄で乾燥し、濾過し、真空下で乾固した。
- シクロスポリン誘導体を定量及び分離するために試料をHPLC分析にかけた。

D. [F-D-Ala]⁺ C₅AのHPLC分析

粗抽出液を次のクロマトグラフィー系を用いてHPLCクロマトグラフィーにより検定した。

溶媒：80/20V：Vのアセトニトリル：水

流速：0.6ml/分

カラム：デュボンソルバクスODS 4.6mm×25cm 60℃に維持する

検出器：LDCスペクトロモニターIII、210nm

0.05AUFSインテグレータ：スペクトラフィジクスSP4100コンピューティングインテグレータ。

1回の400ml発酵からの抽出残留物を塩化メチレン1mlに溶解し、この溶液をメタノールで予め平衡にしたファーマシアLH-20の40mlカラムでクロマトグラフィー処理した。クロマトグラフィーはメタノールを用い流速2ml/分で行ない、1回10ml画分、次に30×1ml画分を集めた。HPLC分析に基づく画分16~27を選び合わせた。合わせた画分を濃縮乾固し、残留物にFをラベルした。試料Fをメタノール250mlに溶解し、60℃に維持したデュボンソルバクスODSカラム0.94×25cmによる分取用HPLCクロマトグラフィーにかけた。クロマトグラフィーは80：20V：Vアセトニトリル：水の溶媒系を用い流速2ml/分で行なった。溶出液の流れを1mmの長さのセルと凝結剤1.28AUFSを備えたLDCスペクトロモニターIIを用いて220nmで監視した。スペクトラフィジクスSP4100コンピューティングインテグレータを用いて紫外線シグナルを監視し、紫外線痕跡に基づく11画分を集めた。画分7はHPLC分析による210nmで紫外線純度99%以上の8-[3-フルオロ-D-アラニン]⁺ C₅A 3.25mgを含んでいた。画分7を高真空下で濃縮乾固して[3-フルオロ-D-アラニン]⁺ C₅A 3.3mgを得た。

【0016】実施例3

[デヒドロ-Ala]⁺ C₅A

窒素下-78℃で撹拌したテトラヒドロフラン2.0ml

にシクロヘキサン中1.5M(0.9ミリモル)リチウムジイソプロピルアミド0.6mlを加える。この溶液にテトラヒドロフラン1.0ml中[2-デュウテロ-3-フルオロ-D-Ala]⁺ シクロスポリンA 50mg(0.042ミリモル)を加える。この混合液を-78℃で30分間撹拌し、温度を-30℃に4時間にわたって徐々に上げる。この混合液を-78℃に冷却し、水0.9ml中酢酸0.15mlを加えて急冷する。次いでこれを重硫酸ナトリウム0.2gを含む飽和水性塩化ナトリウム20mlに加え酢酸エチルで抽出する(20mlずつで3回)。この抽出液を飽和水性塩化ナトリウム(20mlずつで2回)で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、真空下で乾固する。残留物(47mg)を分取用TLC(3枚の500×20×20cmシリカゲルプレート、系-クロロホルム：エタノール=96：4、2展開)で精製して2本の主バンドを得る。極性の大きい方のバンドから[デヒドロ-Ala]⁺ C₅A(17mg)を無色の固形物質として得る(直接収率34%、変換収率53%)。HPLC-デュボンソルバクスODSカラム、80：20=CH₃CN：H₂O/60℃、R_t=14分、FAB-MS=M⁺+1=1200-分子式C₆₂H₁₀₈N₁₁O₁₂と一致する。

¹³CNMRケミカルシフト(CDCl₃, 100MHz)：9.9, 15.8, 16.6, 17.9, 18.6, 18.9, 19.5, 20.2, 21.2, 21.8, 22.0, 23.1, 23.4, 23.7(2x), 23.9, 24.6, 24.7, 24.9, 25.0, 25.2, 29.0, 30.1, 30.4, 31.1, 31.2, 31.3, 32.5, 33.9, 35.6, 35.9, 36.0, 37.1, 39.2, 39.3, 40.8, 48.9, 49.2, 49.3, 50.2, 54.9, 55.2, 55.5, 57.5, 57.8, 58.3, 74.7, 108.3, 126.3, 129.5, 134.8, 167.6, 170.0, 170.1, 170.3, 170.5, 170.8, 171.1, 171.9, 173.4, 173.50及び173.53ppm。炭素数62は分子式と一致する。

極性の小さい方のバンドから回収された[2-デュウテロ-3-フルオロ-D-Ala]⁺ C₅A 19mgを得る。

【0017】実施例4

D-[3-メチルチオ-Ala]⁺ C₅A

メタノール(1.0ml)中[デヒドロ-Ala]⁺ C₅A(45mg, 0.037ミリモル)の撹拌溶液にメタノール(1.5ml)中ナトリウムメチルメルカプチド(60mg)を加える。この混合液を20℃に18時間維持する。次いでこれを重硫酸ナトリウム0.3gを含む飽和水性塩化ナトリウム20mlに加え、混合液を酢酸エチル(15mlずつで4回)で抽出する。有機抽出液を飽和水

性塩化ナトリウム(15mlずつで2回)で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、真空下で濃縮乾固する。残留物(38mg)をHPLC(カラム:デュボンソルバクスODS0.94×25cm、溶媒系:アセトニトリル:水=70:30、60℃に於て2.65ml/分)で精製してD-[3-メチルチオ-A1a]⁸CsA12mg(26%)を得る(算出量は16mg(34%))である。Rt20.5分(CsA=17.4分)、FAB-MS:M⁺+1=1248-分子式C₆₃H₁₁₃N₁₁O₁₂Sと一致する。

¹³CNMRケミカルシフト(CDCl₃, 75MHz): 9.8, 15.8, 16.6, 17.0, 17.9, 18.4, 18.8, 19.9, 20.3, 21.2, 21.7, 22.2, 23.3, 23.5, 23.7, 23.81, 23.84, 24.4, 24.6, 24.89, 24.94, 25.4, 29.2, 29.8, 29.93, 30.0, 31.1, 31.3, 31.5, 33.7, 35.4, 35.8, 36.0, 37.1, 37.3, 39.5(2x), 40.6, 48.2, 48.7, 48.8(2x), 50.3, 51.5, 55.3, 55.4, 57.5, 58.1, 58.8, 74.5, 126.3, 129.7, 170.05, 170.07, 170.2, 170.3, 171.1, 171.5, 171.7, 171.9, 173.4, 173.61及び173.66ppm. 炭素数63は分子式と一致する。

【0018】実施例5

D-[3-カルボメトキシメチルチオ-A1a]⁸CsA

A
メタノール(0.5ml)中メチルメルカプトアセテート(25mg, 0.24ミリモル)の溶液をナトリウムメトキシド(13mg, 0.24ミリモル)に加え、この混合液をメタノール(0.5ml)中[デヒドロ-A1a]⁸CsA(11mg, 0.01モル)の溶液に加える。この反応混合液を20℃に18時間維持する。次いで実施例4の通り処理して、これをHPLC(カラム:デュボンソルバクスODS、溶媒系:メタノール:水=85:15、60℃に於て2.56ml/分)粗生成物15mgを得た。Rt=16.9分(CsA=18.0分)。FAB-MS-M⁺+1=1306-分子式C₆₅H₁₁₅N₁₁O₁₁Sと一致する。

【0019】実施例6

D-[3-(2-ヒドロキシエチルチオ)-A1a]⁸CsA

A
テトラヒドロフラン(0.5ml)中2-メルカプトエタノール(21mg, 0.27ミリモル)の溶液をナトリウムメトキシド(10mg, 0.18ミリモル)に加える。この攪拌混合液にテトラヒドロフラン(0.8ml)中[デヒドロ-A1a]⁸CsA(18mg, 0.015ミリモル)を加える。20℃で18時間後反応混合液を酢

酸エチル(20ml)に加える。後者の溶液を飽和水性塩化ナトリウム(15mlずつで3回)で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥し、真空下で濃縮乾固して粗生成物26mgを得、これをHPLC(カラム:デュボンソルバクスODS0.94×25cm、溶媒系:アセトニトリル:水=75:25、60℃に於て2.65ml/分)Rt=11.5分(CsA=19.8分)で精製する。FAB-MS-M⁺+1=1278-分子式C₆₄H₁₁₅N₁₁O₁₂Sと一致する。¹³CNMRケミカルシフト(C₆D₆, 75MHz): 10.1, 16.0, 17.8, 18.1, 18.5, 18.8, 20.0, 20.1, 21.4, 21.9, 22.3, 23.6, 23.6, 23.8, 24.2, 24.5, 25.8, 25.2, 25.3, 25.5, 25.8, 29.5, 29.7, 30.0, 30.4, 30.8, 31.6, 31.6, 33.8, 34.9, 35.6, 35.9, 36.5, 36.5, 37.8, 39.0, 39.9, 41.5, 48.9, 49.0, 49.2, 49.5, 50.0, 55.5, 55.6, 55.7, 57.8, 58.3, 59.4, 62.1, 74.5, 126.3, 130.7, 169.6, 170.1, 170.3, 170.4, 171.2, 171.6, 172.2, 172.3, 173.8, 174.1及び174.3ppm. 炭素数64は分子式と一致する。

【0020】実施例7

D-[3-(2-ジメチルアミノエチルチオ)-A1a]⁸CsA

2-ジメチルアミノエチルチオール塩酸塩(2g)を1.5M水酸化ナトリウム(10ml)に溶解し、この混合液を酢酸エチルで抽出する。この抽出液を硫酸ナトリウムで乾燥し、真空下で濃縮乾固するとジメチルアミノエチルチオールでなくむしろ対応するジスルフィド、ビスジメチルアミノエチルジスルフィドを無色の油状物質として得る。これに(32mg, 0.15ミリモル)メタノール(0.5ml)中ジチオトレイトール(22mg, 0.14ミリモル)を加え、この混合液をナトリウムメトキシド(12mg, 0.22ミリモル)に加える。この試薬混合液を窒素下で20分間攪拌し、次にメタノール(0.8ml)中[デヒドロA1a]⁸CsA(17mg, 0.014ミリモル)を加える。この反応混合液を窒素下で18時間維持し、実施例4の通り処理する。粗生成物(45mg)をHPLCで精製する。FAB-MS-M⁺+1=1305-分子式C₆₆H₁₂₀N₁₂O₁₂Sと一致する。

【0021】実施例8

D-[3-(2-ヒドロキシエチルチオ)-A1a]⁸CsAスルホキシド

メタノール(2ml)中D-[3-(2-ヒドロキシエチルチオ)-A1a]⁸CsA(35mg)の攪拌溶液に水(0.6ml)中NaIO₄(15mg)の溶液を加える。

この反応混合液を室温で18時間攪拌する。生成したNaIO₃の沈殿を濾過で除去し、メタノールで洗浄する。合わせた濾液と洗液を真空下で少量に濃縮する。酢酸エチルを加える。有機相を飽和水性NaClで洗浄

し、Na₂SO₄で乾燥し、濃縮乾固する。残留物をHPLCで精製する。FAB-MS-M⁺+1=1294
-分子式C₁₁H₁₁S N₁₁O₁₁Sと一致する。

フロントページの続き

(72)発明者 デイヴィッド タウブ
アメリカ合衆国, 08840 ニュージャージー
イ, メチユチエン, ウイスター アヴェニ
ュー 54

(72)発明者 ロバート テー, ジョージルマン
アメリカ合衆国, 07036 ニュージャージー
イ, リンデン, アカデミー テラス 437